

# Adjuvants et stimulants de l'immunité : propriétés immunorégulatrices du muramyl-dipeptide, des corynébactéries anaérobies et du diéthylthiocarbamate de sodium

Denis Archambault, Guylaine Morin et M.A.S.Y. Elazhary

## Résumé

Plusieurs agents immunorégulateurs peuvent agir sur la réactivité immunitaire de l'hôte. Parmi ces derniers se trouvent les adjuvants et les immunostimulants. Dans cet article, après avoir discuté brièvement du mécanisme d'action des adjuvants, nous avons décrit les propriétés immunoadjuvantes et immunostimulantes du muramyl-dipeptide, des corynébactéries anaérobies et du diéthylthiocarbamate de sodium.

## Abstract

Several immunomodulator agents may influence the host immune system. Among them there are the adjuvants and the immunostimulant agents. In this paper, after a brief review of the mechanism of action of adjuvants, we have described the adjuvant and stimulant properties of muramyl-dipeptide, anaerobic corynebacteria and sodium diethylthiocarbamate.

Can Vet J 1988; 28: 51-58

## Introduction

L'étude des adjuvants et des stimulants de l'immunité réside dans le désir sans cesse croissant de prévenir les infections ou d'améliorer et de découvrir différents procédés thérapeutiques pour combattre les maladies infectieuses, traiter les tumeurs ou restaurer des états d'immunodéficience. Historiquement, la recherche et l'intérêt des substances adjuvantes et stimulantes originent de la possibilité d'augmenter la réponse humorale suite à une vaccination. C'est Ramon en 1925 qui décrit le premier adjuvant en montrant que l'addition de pus à l'anatoxine diphtérique augmente la production d'anticorps antitoxines chez les chevaux. Très vite, il est démontré que les mêmes effets peuvent être obtenus avec d'autres produits tels le tapioca ou la mie de pain (1). Les travaux de Freund et coll. (2) rapportent ensuite l'augmentation des taux d'anticorps et l'induction d'une hypersensibilité retardée suite à l'immunisation avec un antigène incor-

poré dans une émulsion eau dans l'huile contenant des mycobactéries. Cet adjuvant connu universellement sous le nom d'adjuvant complet de Freund (ACF) est composé d'une base huileuse de paraffine (Bayol F), d'Arlacel A (monoléate de mannide) comme agent émulsionnant et de cellules mycobactériennes tuées (*Mycobacterium tuberculosis*) (3). Lorsque les mycobactéries sont absentes, la préparation est désignée sous le nom d'adjuvant incomplet de Freund (AIF) (3).

À cause de leur grande hétérogénéité et de leurs effets variés, les produits agissant sur le système immunitaire peuvent être classifiés en divers groupes fonctionnels. Le terme immunorégulateur offre une définition d'ensemble, regroupant les agents capables de modifier positivement ou négativement la réponse immunitaire (4). Parmi les agents immunorégulateurs se trouvent les adjuvants ou les immunoadjuvants qui sont associés spécifiquement aux produits pouvant augmenter les réponses immunitaires à un antigène donné lorsqu'administrés avec ce dernier (1, 4).

D'autres produits appelés immunostimulants sont, quant à eux, susceptibles de renforcer les défenses immunitaires de l'hôte et ont été utilisés notamment dans des thérapies anti-infectieuses (5) et antitumorales (1, 6) et dans la restauration d'états d'immunodéficience (1, 5). Contrairement aux immunoadjuvants, les immunostimulants ont une action plus générale sur le système immunitaire et peuvent modifier simultanément plusieurs réponses immunologiques grâce à une augmentation non spécifique et ordinairement transitoire de la réactivité immunitaire (1, 7). En plus de leurs effets non spécifiques sur le système immunitaire, les immunostimulants peuvent aussi contribuer à augmenter spécifiquement les réponses immunologiques face à des antigènes donnés (7). Les immunostimulants peuvent ainsi manifester des propriétés adjuvantes spécifiques et sont associés dans ce sens précis aux immunoadjuvants (1).

Les substances dotées d'activité immunoadjuvante et/ou immunostimulante peuvent être classifiées en diverses catégories : les adjuvants huileux comme l'ACF et l'AIF; les sels minéraux comme l'hydroxyde d'aluminium; les agents microbiens comme le bacille de Calmette et Guérin (BGG), qui est une souche atténuée de *Mycobacterium bovis*, le *Corynebacterium parvum*, le *Bordetella pertussis*, et leurs dérivés naturels ou synthétiques comme le lipopolysaccharide (LPS), plus particulièrement le lipide A, et le muramyl-dipeptide (MDP); les produits dérivant des plantes comme le bestatin et le zymosan; les produits d'origine leucocytaire comme le facteur de transfert, les

Département de Pathologie et Microbiologie, Faculté de Médecine vétérinaire, C.P. 5000, Saint-Hyacinthe (Québec) J2S 7C6

Adresse présente de D. Archambault: National Institutes of Health, National Cancer Institute, Laboratory of Cellular and Molecular Biology, Building 37, Room 1 E 24, Bethesda, Maryland, USA 20892.

Tirés à part : s'adresser au Docteur Elazhary.

lymphokines et l'interféron; les facteurs thymiques; les acides nucléiques bicaténaires; les substances détergentes comme la saponine et le tween; les vitamines et leurs dérivés comme les vitamines A et E et l'amphotéricine B; et finalement les composés synthétiques de structure variable comme les liposomes, le tilorone, le lévamisole, le diéthylthiocarbamate de sodium (DTC) et l'isoprinosine (1, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14).

Il est bien évident que nous ne pouvons discuter des effets sur le système immunitaire de tous les produits ci-haut mentionnés. Dans la première partie de cet article, nous discuterons des mécanismes d'action des adjuvants, en particulier ceux des adjuvants huileux, et de leur relation particulière avec les cellules immuno-compétentes de l'hôte. Par la suite, nous décrirons les propriétés adjuvantes et immunostimulantes des mycobactéries et du MDP, des corynébactéries anaérobies et finalement celles associées à l'utilisation du DTC.

### **Généralités sur les mécanismes d'action des adjuvants**

L'adsorption d'un antigène sur un gel d'aluminium ou son incorporation dans une émulsion eau dans l'huile comme dans le cas de l'utilisation de l'ACF ou de l'AIF permet la production d'un taux d'anticorps spécifiques significativement plus élevé que si l'antigène administré est dans un milieu aqueux seulement. De plus, la réponse en anticorps qui résulte de ces procédures d'immunisation est de beaucoup prolongée (10, 15). Un tel traitement témoigne d'une plus longue persistance de l'antigène *in vitro*, à la suite de l'inhibition partielle de l'activité enzymatique des macrophages responsables de la dégradation intrinsèque de l'antigène, provoquant ainsi un relâchement lent et stable de l'antigène émulsionné au site de l'injection (10, 15). Cet effet de « dépôt local » suite à la formation d'un granulome *in situ*, provoqué par l'arrivée massive de cellules immunocompétentes, est considéré comme un caractère inhérent à l'activité des adjuvants inertes huileux ou à base de sels minéraux en terme de prolongement de la stimulation antigénique (10, 16). Les adjuvants huileux, en plus de l'activité immunologique manifestée au site de l'injection par la présence des macrophages et des lymphocytes, permettent la dispersion de l'antigène à travers le système lymphatique à partir de multiples microfoyers formés par les gouttelettes de l'émulsion eau dans l'huile (1, 16).

Même si l'effet de dépôt local est important particulièrement dans le cas de l'utilisation d'adjuvants huileux ou minéraux, il est reconnu que les adjuvants en général induisent leurs effets au niveau des interactions cellulaires nécessaires à l'induction d'une réponse immune, dont le contrôle est dépendant des cellules T auxiliaires et suppressives (1), et que les macrophages constituent la cellule cible de plusieurs adjuvants, dont le MDP (14, 15). L'utilisation d'un adjuvant résulte en une amplification des mécanismes d'interactions cellulaires impliquées dans la réponse immunitaire. Par exemple, lorsqu'un adjuvant entre en contact avec les macrophages Ia<sup>+</sup>, il y a altération des mécanismes régulateurs de la réponse immunitaire, permettant l'expansion quantitative et/ou qualitative des cellules

T auxiliaires (17, 18, 19), qui, chez les bovins, expriment à leur surface les antigènes de différenciation BOT2, BOT3 et BOT4 (20). L'activité adjuvante induit une augmentation des sécrétions des macrophages, en particulier l'interleukine-1(1). Il s'ensuit une action indirecte sur les cellules T auxiliaires qui synthétisent et sécrètent davantage d'interleukine-2 ou d'autres facteurs lymphocytaires, résultant en une action positive sur les cellules B à produire plus d'anticorps, ou sur d'autres sous-populations de cellules T à manifester des réactions à médiation cellulaire, comme la cytotoxicité cellulaire (1). En plus du phénomène d'amplification de la réponse immunitaire résultant de l'expansion des cellules T auxiliaires, on pense qu'il y a dans une certaine mesure inhibition de la suppression (1, 15).

Le mécanisme d'action des adjuvants au niveau moléculaire a été étudié par Allison (21). Il est connu que plusieurs adjuvants se localisent et exercent leur action à la surface des macrophages. L'incorporation de l'adjuvant au niveau des membranes cytoplasmiques des macrophages peut favoriser les interactions avec les autres cellules immunocompétentes et induire la synthèse accrue de molécules régulatrices, notamment le guanosine monophosphate cyclique (GMPc) (21). Ainsi l'augmentation du GMPc au niveau des macrophages ou des lymphocytes joue un rôle prépondérant pour l'action adjuvante et immunostimulante du MDP (21) et du lévamisole (8, 11) respectivement. L'adjuvant pourrait aussi se lier au récepteur Ig d'une sous-population de lymphocytes B favorisant ainsi la production d'anticorps d'une classe ou d'une sous-classe donnée. Par exemple, l'utilisation de l'ACF chez le cobaye favorise préférentiellement la formation d'IgG2 (22).

### **Mycobactéries et MDP**

L'utilisation de l'ACF pour l'induction et/ou l'augmentation des réponses humorales et cellulaires spécifiques est reconnue depuis bon nombre d'années déjà (1, 23). En plus de l'effet de dépôt local, l'activité adjuvante de l'ACF s'associe également à la présence de mycobactéries tuées, en l'occurrence *Mycobacterium tuberculosis* (1). Cependant, l'ACF peut provoquer chez l'hôte un grand nombre de réponses biologiques, dont certaines sont particulièrement indésirables. Ainsi, la présence des mycobactéries dans l'ACF peut induire la formation de granulomes tissulaires importants et un développement exagéré du tissu lymphoïde, la sensibilisation de l'hôte à la tuberculine et au choc endotoxique, l'apparition de polyarthrite dite adjuvante chez le rat et le développement de maladies autoimmunes (24, 25).

En plus des activités immunoadjuvantes, les mycobactéries peuvent aussi démontrer des activités immunostimulantes. Par exemple, le BCG est un immunostimulant non spécifique largement utilisé en thérapeutique humaine antitumorale (1, 5). De plus le BCG induit chez la souris une résistance non spécifique à de nombreuses infections microbiennes (5), tout comme l'ACF peut le faire notamment contre le virus de la fièvre aphteuse (26). Le BCG stimule les macrophages, augmente la production d'anticorps contre de

nombreux antigènes et accélère le rejet de greffes (5).

Comme l'ACF, le BCG peut dans certains cas induire une dépression immunitaire chez la souris à la suite d'une stimulation probable de cellules T suppressives (5, 27). Finalement, le BCG s'associe à des problèmes de toxicité reliés à des changements biologiques semblables à ceux obtenus avec l'ACF (5).

L'étude de la chimie des mycobactéries a permis d'associer les activités adjuvantes et immunostimulantes à la paroi cellulaire (23). Il a d'abord été démontré que le produit actif était contenu dans des fractions extraites par le chloroforme de *Mycobacterium tuberculosis*, les cires D (23). Par la suite, une autre fraction fut obtenue par extraction par l'acétone, puis par le méthanol à 100°C, le « methanol extract residue » (MER), qui comprend différents fragments de la paroi bactérienne non encore définis chimiquement (5). La dégradation de la paroi cellulaire par le lysozyme cette fois résulta en l'obtention de fragments hydrosolubles, le « water soluble adjuvant » (WSA) (5). Finalement, des traitements chimiques additionnels du WSA résultèrent en l'obtention du MDP (N-acétyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutamine) (28, 29). Contrairement aux bactéries entières, les extraits solubles WSA et MDP n'entraînent pas de splénomégalie, ni de sensibilité accrue aux endotoxines, et n'induisent pas de sensibilisation à la tuberculine (5).

Le MDP représente la partie minimale de la structure du peptidoglycan des mycobactéries, responsable de l'activité adjuvante de l'ACF (24, 30, 31, 32). Il exerce son action immunorégulatrice au niveau des macrophages résultant en une synthèse accrue d'interleukine-1 (33, 34, 35, 36, 37).

Les travaux de Chedid et coll. (24, 38) et ceux de Kotani et coll. (29) rapportent la synthèse du MDP et de plusieurs analogues structuraux qui démontrent des effets biologiques et immunorégulateurs variables, probablement reliés à la configuration spatiale de la molécule entière et aux groupes carboxyliques alpha et gamma du résidu D-isoglutamine (24, 29, 38, 39, 40). Un des analogues du MDP, le murabutide, est des plus prometteurs puisqu'il conserve des propriétés immunoadjuvantes et immunostimulantes sans exercer les effets pyrogènes et hypogènes associés au MDP (41).

Les travaux réalisés chez la souris montrent que le MDP possède à la fois des effets adjuvants et immunostimulants. Lorsqu'administré avec l'AIF, le MDP peut augmenter les réponses immunitaires cellulaires et humorales face à de nombreux antigènes (24, 31, 32). Chedid et coll. (38) démontrent même une stimulation accrue de l'immunité humorale chez la souris lorsque le MDP est mélangé avec l'antigène dans un milieu aqueux. Il fut de plus observé que le MDP administré par la voie orale, à un site différent alors de l'antigène, peut également manifester une action immunoadjuvante (31, 38, 42).

La plupart des études réalisées rapportent que le MDP ne peut induire ou augmenter des réponses à médiation cellulaire chez l'hôte lorsque les antigènes et l'adjuvant sont présentés dans un milieu aqueux (31). Cependant, des résultats positifs ont été rapportés lorsque le MDP et l'antigène sont incorporés dans des liposomes (14, 24, 31).

L'activité adjuvante du MDP peut aussi se manifester par la conjugaison de l'antigène et/ou du MDP lui-même à un « carrier » protéinique (24, 31), ou en couplant directement le MDP sur l'antigène naturel ou de synthèse avec l'emploi ou non de l'AIF (30). L'un des exemples récents mettant à profit ces types de conjugaison est la vaccination de souris avec une séquence protéinique (acides aminés retrouvés aux positions 91 à 108) de l'hémagglutinine du virus de l'influenza, conjuguée à l'anatoxine tétanique et au MDP. Ce procédé de vaccination résulte en une production d'anticorps spécifiques, capables de protéger les sujets contre une épreuve de défi (43). Il a été aussi démontré que le murabutide synthétique, mélangé dans un milieu salin avec un complexe antigénique lié et formé de trois peptides de synthèse différents (peptide diphtérique, peptide du virus de l'hépatite B ou antigène S et le peptide CS de *Plasmodium knowlesi*), induit chez la souris une réponse humorale équivalente à celle obtenue avec l'utilisation de l'ACF (30). Ces dernières observations sont intéressantes puisqu'il est permis d'envisager l'utilisation du MDP couplé ou non au peptide de synthèse obtenu grâce à la biotechnologie moderne (44), et d'incorporer le complexe dans des liposomes biodégradables et non immunogènes pour induire une réponse immunitaire maximale (14, 30, 45). Finalement, la capacité adjuvante du MDP peut être augmentée par l'incorporation dans la préparation vaccinale d'anticorps monoclonaux anti-MDP (46).

En plus de l'activité immunoadjuvante, le MDP et ses dérivés peuvent manifester des activités immunostimulantes *in vitro* et *in vivo*. *In vitro*, ces glycopeptides peuvent augmenter des réponses immunitaires spécifiques à des antigènes comme la stimulation lymphoblastique ou la réponse cytotoxique associée aux cellules T (31, 47), et non spécifiques comme la stimulation polyclonale ou l'activation des macrophages (24, 48, 49). D'autres réponses *in vitro* ont été rapportées montrant que le MDP ou ses dérivés, incubés avec des macrophages péritonéaux prélevés chez des souris, peuvent augmenter chez ces cellules l'activité bactéricide, la synthèse de facteurs activant les lymphocytes, la production d'enzymes divers comme la collagénase et les taux intracellulaires de prostaglandines (46, 50).

*In vivo*, des études ont montré que le MDP inoculé à des souris peut stimuler le système réticuloendothélial mesuré par un test de clairance du carbone et augmenter le chimiotactisme des cellules polymorphonucléaires isolées du péritoine (51, 52). Le MDP peut aussi stimuler *in vivo* la myélopoïèse surtout au niveau de la lignée germinale des macrophages (53, 54).

Le MDP peut aussi démontrer une augmentation non spécifique de la résistance à divers agents infectieux (24, 55, 56, 57) et induire des activités antitumorales (37, 47, 48, 58, 59). Finalement, le MDP ou ses dérivés peuvent dans certains cas induire des effets d'immunodépression, possiblement à la suite de la stimulation d'une sous-population de cellules T suppressives (1, 40, 60, 61).

### **Les corynébactéries anaérobies**

Les bactéries corynéformes anaérobies comme *Corynebacterium parvum* (CP), *Corynebacterium anaer-*

*robium*, *Corynebacterium granulosum*, *Corynebacterium acnes* et *Corynebacterium avidum* peuvent manifester des activités régulatrices significatives sur le système immunitaire (25, 62). Au point de vue de la taxonomie bactérienne, il a été proposé, à la suite d'études sérologiques (propriétés antigéniques), biochimiques (composition de la paroi cellulaire) et moléculaires (hybridation des acides désoxyribonucléiques ou ADN) que les corynébactéries anaérobies soient regroupées à l'intérieur du genre *Propionibacterium* (25, 62).

Les corynébactéries anaérobies tuées et en particulier diverses souches de CP induisent, lorsqu'administrées *in vivo* par la voie intraveineuse (IV), une stimulation importante du système réticuloendothélial, caractérisée par une hyperplasie lymphoïde au niveau du foie et de la rate (25, 62). Il a été en outre démontré que le CP exerce son action principalement au niveau des macrophages par un contact direct avec ces derniers, pouvant même résulter en la phagocytose des particules bactériennes elles-mêmes, et/ou par l'élaboration subséquente de facteurs solubles par les lymphocytes exposés au CP et déjà activés par les macrophages (62, 63, 64, 65, 66, 67).

Contrairement aux mycobactéries, le CP augmente aussi bien la production d'anticorps contre les antigènes T-indépendants que contre les antigènes T-dépendants (25). Toutefois, la plupart des études démontrent qu'en général, l'utilisation *in vivo* de CP n'induit pas de réaction d'hypersensibilité retardée (DTH) face aux antigènes spécifiques (25, 62). Au contraire, l'administration systémique du CP peut dans certains cas induire des effets inhibiteurs au niveau des fonctions associées aux cellules T comme la réponse à la phytohématagglutinine (PHA) (68, 69), la réaction lymphocytaire mixte (MLR) (69), la réponse du greffon contre l'hôte (GVH) (69), et une diminution des réponses cellulaires ou humorales face à des antigènes spécifiques (62, 70, 71).

Il est cependant possible d'induire des réponses à médiation cellulaire face à des antigènes donnés en utilisant le CP. Par exemple, l'injection sous-cutanée d'antigènes tumoraux ou de globules rouges de mouton (GRM) mélangés avec du CP résulte en l'apparition de fortes réponses à médiation cellulaire chez le cobaye (62). Des travaux chez la souris démontrent aussi la production de DTH suite à l'administration sous-cutanée de CP et de GRM au niveau des coussinets plantaires (72). Finalement, le CP augmente chez le cobaye l'effet de l'AIF et de l'alhydrogel relativement à l'induction d'une DTH spécifique à l'ovalbumine (72).

L'injection *in vivo* de CP induit des activités antitumorales décelables tant *in vivo* qu'*in vitro* (73, 74, 75, 76). Ces activités antitumorales sont dues à l'action de macrophages cytotoxiques activés (64) ou à l'action de cellules tueuses naturelles (cellules NK) (74), reliée possiblement à une synthèse endogène d'interféron par les macrophages eux-mêmes ou par des lymphocytes T activés (1, 77, 78). Néanmoins, des suppressions de l'activité antitumorale des cellules NK et de la cytotoxicité cellulaire dépendante d'anticorps dirigée contre des antigènes tumoraux peuvent survenir à la suite d'un traitement systémique avec le CP (79). Ces phéno-

mènes transitoires de dépression immunitaire sont associés à la stimulation de cellules T suppressives (79).

Le traitement *in vivo* avec du CP induit une augmentation de la résistance face aux infections virales (77, 80, 81, 82), bactériennes (62, 67, 82, 83) et parasitaires (67, 84, 85, 86). Une stimulation non spécifique par injection intrapéritonéale de CP chez la souris est aussi observée en mesurant l'effet cytotoxique *in vivo* des macrophages péritonéaux sur les particules de *Candida parapsilosis* (87). Finalement, le CP peut augmenter l'activité polyclonale *in vitro* des lymphocytes isolés à partir d'humains sains (78, 88, 89).

### **Le diéthylthiocarbamate de sodium**

La recherche et le développement du DTC comme agent immunostimulant découlent des études réalisées tout d'abord sur le lévamisole. Le lévamisole, utilisé initialement chez les animaux pour ses propriétés antihelminthiques, est reconnu pour ses activités immunorégulatrices diverses par son action au niveau des macrophages et surtout au niveau des cellules T (8, 90). Toutefois des traitements prolongés avec ce produit peuvent occasionner des effets secondaires variés comme du prurit, de la fièvre, des ulcérations orales et de l'agranulocytose (67). C'est alors que Renoux (12, 91) découvrit le DTC, agent chimique capable d'induire des effets immunorégulateurs comparables au lévamisole sans toutefois en démontrer les inconvénients.

Le DTC est un chélatant soufré à haute affinité pour le mercure, le cuivre, le nickel et le zinc et est employé en outre pour l'analyse de ces métaux (91). Le DTC possède en plus des propriétés fongicides, bactéricides et parasitocides et peut être utilisé pour traiter des empoisonnements par certains métaux comme le nickel (91).

Le DTC comme immunostimulant offre en soi des caractéristiques intéressantes. Il est non immunogène, ni cancérigène, est non mutagène et sa composition chimique est bien connue. De plus, le DTC purifié ne manifeste pas de toxicité chez la souris pas plus que chez l'homme lorsqu'utilisé à des doses immunostimulantes (0,50 à 25 mg/kg de poids corporel) et son élimination dans l'organisme est rapide, 60% de la dose étant excrétée dans les trois heures après le traitement (91).

Suivant son administration IV ou sous-cutanée chez la souris, le DTC stimule diverses réactions immunitaires. Il augmente les réponses prolifératives *in vitro* des lymphocytes spléniques à la PHA et à la cannavaline A (Con A) de même qu'aux cellules allogéniques, sans être lui-même un activateur polyclonal lorsqu'utilisé *in vitro* (12, 91, 92). Une augmentation quantitative au niveau de la rate des cellules productrices d'anticorps dirigés contre les GRM et ultérieurement celle des anticorps spécifiques dans le sérum sont aussi observées (93, 94). Le DTC induit une réponse DTH vis-à-vis les GRM plus importante et de plus longue durée que chez les animaux non traités (91, 93). Il accroît aussi la mémoire immunologique probablement à la suite d'une augmentation des cellules T mémoires (91). Le DTC stimule l'activité lytique antitumorale des cellules NK (91) et restaure les fonctions

du système immunitaire supprimé par des traitements à l'azathioprine ou à la cortisone (95). Tous ces effets sur le système immunitaire se maintiennent plusieurs jours après une seule administration et le DTC démontre son efficacité même par la voie orale (91).

Le DTC manifeste aussi des activités immunorégulatrices chez le cobaye (96, 97, 98). Il peut en outre augmenter respectivement les réponses DTH et d'anticorps vis-à-vis différents « carriers » protéiniques et un haptène selon la dose utilisée de DTC et le temps d'administration (96). Ainsi, le DTC utilisé à une dose de 10 mg par animal induit une réaction DTH vis-à-vis le « carrier » et diminue la synthèse d'anticorps spécifiques à l'haptène. Par contre, lorsque le DTC est utilisé à une plus faible dose de 50 µg par animal, aucune réaction DTH n'est observée alors que la production d'anticorps antihapténiques est diminuée ou augmentée selon que l'injection est réalisée avant ou après l'immunisation. Finalement, l'administration de DTC chez les cobayes peut augmenter les réponses prolifératives *in vitro* des lymphocytes spléniques à la PHA, la Con A et au Pokeweed mitogen (PWM) (98).

Le DTC peut également manifester d'autres actions sur le système immunitaire. Il augmente en outre l'effet de l'interféron pour accroître la résistance des souris face à une infection avec le virus de l'encéphalomyocardite (99) et induit des propriétés antitumorales *in vivo* (91). Le DTC peut de plus stimuler *in vivo* les fonctions du système réticuloendothélial par l'augmentation chez la souris de l'activité bactéricide *in vitro* des macrophages péritonéaux contre *Listeria monocytogenes* (93) ou par l'augmentation de la clairance de l'or colloïdal chez le cobaye (97). Cependant, l'administration de DTC abaisse de près de la moitié le pouvoir protecteur qu'accorde la vaccination orale contre *Salmonella typhimurium* chez la souris (100).

Le DTC exerce son influence sur le système immunitaire par son action spécifique sur le recrutement et la maturation des lymphocytes T à partir des précurseurs indifférenciés (92, 101, 102, 103, 104). Les effets immunostimulants sont dus à la synthèse accrue, même chez les souris athymiques, de substances hormonales dont l'une est synthétisée dans le foie (12, 91, 92). Ces synthèses hormonales sont contrôlées par le cortex cérébral démontrant ainsi un lien particulier entre le système nerveux central et le système immunitaire (92, 105, 106). Ainsi, l'administration de DTC chez la souris augmente le pourcentage de lymphocytes spléniques Thy-1<sup>+</sup>, le nombre de cellules spléniques Qa-1a<sup>+</sup> et T1a<sup>+</sup> ainsi que le nombre de cellules thymiques Ia<sup>+</sup> (92).

## Conclusion

Il est bien connu que les agents immunorégulateurs, incluant ceux décrits dans cet article, peuvent induire au niveau du système immunitaire des effets variables, allant de l'immunostimulation à l'immunodépression, ou encore ne démontrer aucune influence sur la réactivité immunitaire de l'hôte (4, 6). Par exemple, le choix d'un adjuvant particulier est d'autant plus difficile que son effet *in vivo* dépend de plusieurs facteurs, soulignant tout particulièrement l'étroite interrelation entre l'hôte, l'antigène et l'adjuvant lui-même. En effet, les

types et doses de l'antigène et de l'adjuvant utilisés, le temps et la voie d'administration de l'antigène et/ou de l'adjuvant, le mode de préparation du vaccin, l'association d'adjuvants différents, le nombre d'inoculations vaccinales, l'espèce et même l'individu sont tous des facteurs qui peuvent influencer, d'une manière ou d'une autre, la réponse immunitaire spécifique de l'hôte (6, 10, 25, 72, 87, 107, 108). Chaque adjuvant offre des avantages et des désavantages. Il est donc peu probable qu'un seul adjuvant puisse être employé dans toutes les procédures de vaccination.

Quant à l'activité immunostimulante des agents immunorégulateurs, elle se veut d'autant plus intéressante que des produits commerciaux contenant des extraits de parois cellulaires de mycobactéries (Regressin™, Vetrepharm, London, Ontario) ou encore une suspension cellulaire de *Corynebacterium parvum* inactivé (Immunoregulin™, Immunovet, Tampa, Florida) sont déjà employés chez les animaux à des fins thérapeutiques diverses. Il a été démontré que ces deux produits commerciaux, de même que le DTC, augmentent chez les jeunes bovins les réponses prolifératives *in vitro* des lymphocytes du sang aux agents mitogènes PHA et Con A dans les trois jours suivant leur inoculation *in vivo* (109). Ainsi, une telle augmentation de l'activité fonctionnelle des cellules immunocompétentes permet de penser à l'expérimentation de ces agents immunorégulateurs dans des thérapies anti-infectieuses et même antitumorales chez les bovins. Finalement, la restauration d'états d'immunodéficience chez les individus âgés ou l'augmentation de l'activité immunitaire des sujets nouveau-nés, comme dans le cas de l'utilisation du DTC (110, 111), ou encore des interventions médicales, comme la castration immunologique avec l'emploi du MDP (112), sont d'autres applications possibles des agents immunorégulateurs qu'il est permis d'envisager dans le futur en médecine vétérinaire.

## Remerciements

Travail subventionné par le Conseil National de Recherche en Sciences et en Génie du Canada (subvention A-0043) et par le Conseil des Recherches et Services Agricoles du Québec (subvention MMV-83-989).

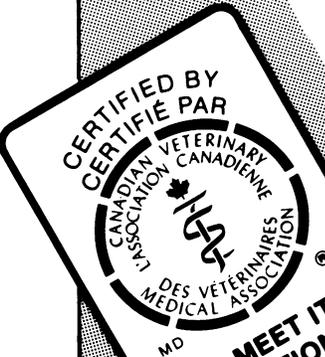
## Références

1. BACH JF. Immunologie. Paris: Flammarion Médecine-Sciences, 1986.
2. FREUND J, CASALS J, HOSMER EE. Sensitization and antibody formation after injection of tubercle bacilli and paraffin oil. Proc Soc Exp Biol Med 1937; 37: 507-513.
3. HERBERT WJ. Mineral-oil adjuvants and the immunization of laboratory animals. In: Weir DM, ed. Handbook of Experimental Immunology, 3rd ed. Blackwell Scientific Publications, 1978: A3.1-A3.15.
4. BIZZINI B. Present state of the knowledge in the field of adjuvants. In: Cancellotti FM, Galassi D, eds. Adjuvants, Interferon and Non-specific Immunity. Commission of the European Communities, 1984: 79-86.
5. LESAVRE P, BACH JF. Place de l'immunostimulation dans la thérapeutique anti-infectieuse. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 1980; 3: 391-406.
6. STEWART-TULL DS. The immunological activities of bacterial peptidoglycans. Ann Rev Microbiol 1980; 34: 311-340.

7. POLI G. Immunomodulators. In: Cancellotti FM, Galassi D, eds. Adjuvants, Interferon and Non-specific Immunity. Commission of the European Communities, 1984; 111-126.
8. AMERY WK, HORIG C. Levamisole. In: Fenichel R, Chirigos M, eds. Immune Modulation Agents and their Mechanisms. New York: Marcel Dekker Inc., 1984; 383-408.
9. DREWS J. Immunostimulation. Clinical and experimental perspectives. *Klin Wochenschr* 1984; 62: 254-264.
10. EDELMAN R. Vaccine adjuvants. *Rev Infect Dis* 1980; 2: 370-383.
11. FORD RB. Biological response modifiers in the management of viral infection. In: Ford RB, ed. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. WB Saunders Company, 1986; 16: 1191-1204.
12. RENOUX G. Biological augmenting agents. In: Sirois P, Rolapleszczynsky M, eds. *Immunopharmacology*. Elsevier Biomedical Press, 1982; 287-314.
13. RIBI E, CANTRELL JL, TAKAYAMA K, QURESHI N, PETERSON J, RIBI HO. Lipid A and immunotherapy. *Rev Infect Dis* 1984; 6: 567-572.
14. WARREN HS, VOGEL FR, CHEDID LA. Current status of immunological adjuvants. In: Paul WE, Fathman CG, Metzger H, eds. *Ann Rev Immunol* 1986; 4: 369-388.
15. OSEBOLD JW. Mechanisms of action by immunologic adjuvants. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 181: 983-987.
16. CESSI D. Application of oil emulsion vaccines in veterinary medicine. In: Cancellotti FM, Galassi D, eds. *Adjuvants, Interferon and Non-specific Immunity*. Commission of the European Communities, 1984; 95-100.
17. CONE RE, JOHNSON AG. Regulation of the immune system by synthetic polynucleotides. III. Action on antigene-reactive cells of thymic origin. *J Exp Med* 1971; 133: 665-676.
18. LOWY I, THEZE J, CHEDID L. Stimulation of the *in vivo* dinitrophenyl antibody response to the DNP conjugate of L-glutamic acid<sub>60</sub>-L-alanine<sub>30</sub>-L-tyrosine<sub>10</sub>(GAT) polymer by a synthetic adjuvant, muramyl dipeptide (MDP): Target cell for adjuvant activity and isotypic pattern of MDP-stimulated response. *J Immunol* 1980; 124: 100-104.
19. SUGIMOTO M, GERMAIN RN, CHEDID L. Enhancement of carrier-specific helper T cell function by the synthetic adjuvant, N-acetyl-muramyl-L-analyl-D-isoglutamine (MDP). *J Immunol* 1978; 120: 980-982.
20. TEALE A, BALDWIN CL. Phenotypic and functional characterization of T cell subsets in cattle. 1st International Veterinary Immunology Symposium, July 1-4, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada, 1986.
21. ALLISON AC. Mode of action of immunological adjuvants. *J Reticuloendothel Soc* 1979; 26: 619-630.
22. BINAGHI RA. Production of 7S immunoglobulins in immunized guinea pigs. *J Immunol* 1966; 97: 159-164.
23. LEDERER E. Natural and synthetic immunostimulant related to the mycobacterial cell wall. In: Mathieu J, ed. *Proc 5th Int Symposium on Medicinal Chemistry*. Elsevier Scientific, 1977; 257-279.
24. CHEDID L, AUDIBERT F, JOHNSON AG. Biological activities of Muramyl Dipeptide, a synthetic glycopeptide analogous to bacterial immunoregulating agents. *Prog Allergy* 1978; 25: 63-105.
25. WHITE RG. The adjuvant effect of microbial products on the immune response. *Ann Rev Microbiol* 1976; 30: 579-600.
26. GORHE DS. Inhibition of multiplication of foot and mouth disease virus in adult mice pretreated with Freund's complete adjuvant. *Nature* 1967; 216: 1242-1244.
27. ASHERSON GL. Depression of cell-mediated immunity by pretreatment with adjuvants. In: *Microbiology*. Washington, D.C: American Society for Microbiology, 1977; 382-387.
28. ELLOUZ F, ADAM A, CIORBARU R, LEDERER E. Minimal structural requirements for adjuvant activity of bacterial peptidoglycan derivatives. *Biochem Biophys Res Commun* 1974; 59: 1317-1325.
29. KOTANI S, WATANABE Y, KINOSHITA F, SHUNONO T, MORISAKI I, SHIBA T, KUSUMOTO S, TARUMI Y, IKENAKA K. Immunoadjuvant activities of synthetic N-acetyl muramyl-peptides or-amino acids. *Biken J* 1975; 18: 105-111.
30. CHEDID L. Adjuvants of immunity. *Ann Inst Pasteur/Immunol* 1985; 136D: 283-291.
31. CHEDID L, CARELLI C, AUDIBERT F. Recent developments concerning muramyl dipeptide, a synthetic immunoregulating molecule. *J Reticuloendothel Soc* 1979; 26: 631-641.
32. CHEDID L, AUDIBERT F, JOLIVET M. Role of muramyl peptides for the enhancement of synthetic vaccines. *Dev Biol Stand* 1986; 63: 133-140.
33. DAMAIS C, RIVEAU G, PARANT M, GEROTA J, CHEDID L. Production of lymphocyte activating factor in the absence of endogenous pyrogen by rabbit or human leukocytes stimulated by a muramyl dipeptide derivative. *Int J Immunopharmacol* 1982; 4: 451-462.
34. DINARELLO CA, KRUEGER JM. Induction of interleukin 1 by synthetic and naturally occurring muramyl peptides. *Fed Proc* 1986; 45: 2545-2548.
35. FÉVRIER M, BIRRIEN JL, LECLERC C, CHEDID L, LIACOPOULOS P. The macrophage: target cell of the synthetic adjuvant muramyl dipeptide. *Eur J Immunol* 1978; 8: 558-562.
36. OPPENHEIM JJ, TOGAWA A, CHEDID L, MIZEL S. Components of mycobacteria and muramyl dipeptide with adjuvant activity induce lymphocyte activating factor. *Cell Immunol* 1980; 50: 71-81.
37. TENU JP, LEDERER E, PETIT JF. Stimulation of thymocyte mitogenic protein secretion and of cytostatic activity of mouse peritoneal macrophages by trehalose dimycolate and muramyl dipeptide. *Eur J Immunol* 1980; 10: 647-653.
38. CHEDID L, AUDIBERT F, LEFRANCIER P, CHOAY J, LEDERER E. Modulation of the immune response by a synthetic adjuvant and analogs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73: 2472-2475.
39. AUDIBERT F, CHEDID L, LAFRANCIER P, CHOAY J. Distinctive adjuvancy of synthetic analogs of mycobacterial water-soluble components. *Cell Immunol* 1976; 21: 243-249.
40. KOTANI S, WATANABE Y, KINOSHITA F, MORISAKI I, KATO K, SHIBA T, KUSUMOTO S, TARUMI Y, IKENAKA K. The effect of replacement of L-alanine residue by glycine, L-serine of D-alanine in an N-acetyl muramyl-L-Analyl-D-isoglutamine on immunoadjuvancies of molecules. *Biken J* 1977; 20: 39-45.
41. CHEDID LA, PARANT MA, AUDIBERT FM, RIVEAU GJ, PARANT FJ, LEDERER E, CHOAY JP, LEFRANCIER PL. Biological activity of a new synthetic muramyl peptide adjuvant devoid of pyrogenicity. *Infect Immun* 1982; 35: 417-424.
42. OGAWA T, KOTANI S, SHIMAUCHI N. Enhancement of serum antibody production in mice by oral administration of lipophilic derivatives of muramyl peptides and bacterial lipopolysaccharides with bovine serum albumin. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1986; 8: 117-125.
43. SHAPIRA M, JOLIVET M, ARNON R. A synthetic vaccine against influenza with built-in adjuvanticity. *Int J Immunopharmacol* 1985; 7: 719-723.
44. BACHRACH HL. New approaches to vaccines. In: Cornelius CE, Simpson CF, eds. *Adv Vet Sci Comp Med* 1985; 30: 1-38.
45. ROUSE BT. Lysosomes as carriers of antigens as well as other molecules involved in immunity. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 181: 988-991.
46. BAHR GM, CHEDID L. Immunological activities of muramyl peptides. *Fed Proc* 1986; 45: 2541-2544.
47. MATTER A. The effects of muramyl dipeptide (MDP) in cell-mediated immunity. A comparison between *in vitro* and *in vivo* systems. *Cancer Immunol Immunother* 1979; 6: 201-210.
48. JUY D, CHEDID L. Comparison between macrophage activation and enhancement of non specific resistance to tumors by mycobacterial immunoadjuvants. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 4105-4109.
49. SPECTER S, FRIEDMAN H, CHEDID L. Dissociation between the adjuvant vs mitogenic activity of a synthetic muramyl dipeptide for murine splenocytes. *Proc Soc Exp Biol Med* 1977; 155: 349-352.
50. WAHL SM, WAHL LM, MCCARTHY JB, CHEDID L, MERGENHAGEN SE. Macrophage activation by mycobacterial water soluble components and synthetic muramyl dipeptide. *J Immunol* 1979; 122: 2226-2231.
51. OSADA Y, OTANI T, SATO M, UNE T, MATSUMOTO K, OGAWA H. Polymorphonuclear leukocyte activation by a synthetic muramyl dipeptide analog. *Infect Immun* 1982; 38: 848-854.

52. TANAKA A, NAGAO S, SAITO R, KOTANI S, KUSUMOTO S, SHIBA T. Correlation of stereo-chemically specific structure in muramyl dipeptide between macrophage activation and adjuvant activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1977; 77: 621-627.
53. GALELLI A, CHEDID L. Modulation of myelopoiesis *in vivo* by synthetic adjuvant-active muramyl peptides: Induction of colony-stimulating activity and stimulation of stem cell proliferation. *Infect Immun* 1983; 42: 1081-1085.
54. GALELLI A, CHEDID L. Induction of colony-stimulating activity (CSA) by a synthetic muramyl peptide (MDP): synergism with LPS and activity in C3H/HeJ mice and in endotoxin-tolerized mice. *J Immunol* 1986; 137: 3211-3215.
55. CHEDID L, PARANT M, PARANT F, LEFRANCIER P, CHOAY J, LEDERER E. Enhancement on non-specific immunity to *Klebsilla pneumoniae* infection by a synthetic immunoadjuvant (N-acetyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutamine) and several analogs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74: 2089-2093.
56. IKEDA S, NEGISHI T, NISHIMURA C. Enhancement of non-specific resistance to viral infection by muramyl dipeptide and its analogs. *Antiviral Res* 1985; 5: 207-215.
57. PARANT M, CHEDID L. Stimulation of non-specific resistance to infections by synthetic immunoregulatory agents. *Infection* 1985; 13: S251-S255.
58. LECLERC C, BAHR GM, CHEDID L. Marked enhancement of macrophage activation induced by synthetic muramyl dipeptide (MDP) conjugate using monoclonal anti-MDP antibodies. *Cell Immunol* 1984; 86: 269-277.
59. ROCHE AC, BAILLY P, MONSIGNY M. Macrophage activation by MDP bound to neoglycoproteins: metastasis eradication in mice. *Invasion Metastasis* 1985; 5: 218-232.
60. FERGUSON TA, KRIEGER NJ, PESCE A, MICHAEL JG. Enhancement of antigen-specific suppression by muramyl dipeptide. *Infect Immun* 1983; 39: 800-806.
61. LECLERC C, BOURGEOIS E, CHEDID L. Demonstration of muramyl dipeptide (MDP) — induced T suppressor cells responsible for MDP immunosuppressive activity. *Eur J Immunol* 1982; 12: 249-253.
62. MILAS L, SCOTT MT. Antitumor activity of *Corynebacterium parvum*. *Adv Cancer Res* 1978; 26: 257-306.
63. CHAPES SK, HASKILL S. Role of *Corynebacterium parvum* in the activation of peritoneal macrophages. I. Association between intracellular *C. parvum* and cytotoxic macrophages. *Cell Immunol* 1982; 70: 65-75.
64. CHAPES SK, HASKILL S. Role of *Corynebacterium parvum* in the activation of peritoneal macrophages. II. Identification of distinguishable anti-tumor activities by macrophage sub-populations. *Cell Immunol* 1983; 76: 49-57.
65. CHRISTIE GA, BOMFORD R. Mechanisms of macrophage activation by *Corynebacterium parvum* 1. *In vitro* experiments. *Cell Immunol* 1975; 17: 141-149.
66. CULLEN RT, GHAFFAR A. Possible mechanisms underlying the induction of cytotoxic macrophages by *Corynebacterium parvum*: *In vitro* induction of cytotoxicity in normal macrophages by immune lymphocytes. *J Reticuloendothel Soc* 1978; 24: 339-349.
67. SWARTZBERG JE, KRAHNBUHL JL, REMINGTON JS. Dichotomy between macrophage activation and degree of protection against *Listeria monocytogenes* and *Toxoplasma gondii* in mice stimulated with *Corynebacterium parvum*. *Infect Immun* 1975; 12: 1037-1043.
68. KIRCHNER H, HOLDEN HT, HERBERMAN RB. Spleen suppressor macrophages induced in mice by injection of *Corynebacterium parvum*. *Cell Immunol* 1975; 155: 1212-1216.
69. SCOTT MT. Biological effects of the adjuvant *Corynebacterium parvum*: 1. Inhibition of PHA, mixed lymphocyte and GVH reactivity. *Cell Immunol* 1972; 5: 459-468.
70. NAGOYA T, KOBAYASHI F, NOMOTO K. Immunological properties of *Propionibacterium acnes* 1. Potentiation and suppression on antibody response to sheep and hamster erythrocytes in mice. *Microbiol Immunol* 1977; 21: 33-44.
71. SCOTT MT. Depression of delayed-type hypersensitivity by *Corynebacterium parvum*: mandatory role of the spleen. *Cell Immunol* 1974; 13: 251-263.
72. BOMFORD R. The comparative selectivity of adjuvants for humoral and cell-mediated immunity. II. Effect on delayed-type hypersensitivity in the mouse and guinea pig and cell-mediated immunity to tumour antigens in the mouse of Freund's incomplete and complete adjuvants, alhydrogel, *Corynebacterium parvum*, *Bordetella pertussis*, muramyl dipeptide and saponin. *Clin Exp Immunol* 1980; 39: 435-441.
73. NEIFELD JP, TERZ JJ, KAPLAN AM, LAWRENCE W. Adjuvant *Corynebacterium parvum* immunotherapy for squamous cell epitheliomas of the oral cavity, pharynx, and larynx. *J Surg Oncol* 1985; 28: 137-145.
74. NASRALLAH AG, GALLAGHER MT, PRIEST EL, TRENTIN JJ. Comparative effects of different strains of *Corynebacterium parvum* on natural cell-mediated cytotoxicity. *Cancer Res* 1980; 40: 4159-4164.
75. SADLER TE, CASTRO JE. The effects of *Corynebacterium parvum* and surgery on the Lewis lung carcinoma and its metastases. *Br J Surg* 1976; 63: 292-296.
76. STIFFEL C, CHALVET H, MAZUREK C. Activité antitumorale de différentes doses de *Corynebacterium parvum* en fonction de l'âge de la souris. *Ann Inst Pasteur/Immunol* 1985; 136D: 19-27.
77. NEWMANN C, MACHER E, SORG C. Interferon production by *Corynebacterium parvum* and BCG-activated murine spleen macrophages. *Immunobiology* 1980; 157: 12-23.
78. SUGIYAMA M, EPSTEIN B. Effect of *Corynebacterium parvum* on human T-lymphocyte interferon production and T-lymphocyte proliferation *in vitro*. *Cancer Res* 1978; 38: 4467-4473.
79. MILISAUSKAS VK, CUDKOWICZ G, NAKAMURA I. Cellular suppression of murine ADCC and NK activities induced by *Corynebacterium parvum*. *Cancer Immunol Immunother* 1983; 15: 149-154.
80. COHEN DA, BUBEL HC. Induction of resistance to Ectromelia virus infection by *Corynebacterium parvum* in murine peritoneal macrophages. *J Reticuloendothel Soc* 1983; 33: 35-46.
81. GLASGOW LA, FISCHBACH J, BRYANT SM, KERN ER. Immunomodulation of host resistance to experimental viral infection in mice: Effect of *Corynebacterium acnes*, *Corynebacterium parvum* and Bacille Calmette-Guerin. *J Infect Dis* 1977; 135: 763-770.
82. MORAHAN PS, DEMPSEY WL, VOLKMAN A, CONNOR J. Antimicrobial activity of various immunomodulators: independence from normal levels of circulating monocytes and natural killer cells. *Infect Immun* 1986; 51: 87-93.
83. ADLAM C, BROUGHTON FS, SCOTT MT. Enhanced resistance of mice to infection with bacteria following pretreatment with *Corynebacterium parvum*. *Nature* 1972; 235: 216-220.
84. CLARK IA, COX REG, ALLISON AC. Protection of mice agent *Babesia* and *Plasmodium* spp. with killed *Corynebacterium parvum*. *Parasitology* 1977; 74: 9-18.
85. MURRAY M, MORRISON WI. Non-specific induction of increased resistance in mice to *Trypanosoma congolense* and *Trypanosoma brucei* by immunostimulants. *Parasitology* 1979; 79: 349-366.
86. SAWYER RT, MOON RJ, BENEKE ES. Trapping and killing of *Candida albicans* by *Corynebacterium parvum*-activated livers. *Infect Immun* 1981; 32: 945-950.
87. HILGERS LA, SNIPPE H, JANSZE M, WILLERS JMN. Effects of *in vivo* administration of different adjuvants on the *in vitro* candidocidal activity of mouse peritoneal cells. *Cell Immunol* 1985; 90: 14-23.
88. GODAL T, KLEPP O, ONSRUD M. Mitogenic effect of *Corynebacterium parvum* on T-lymphocytes of human peripheral blood. *Cancer Immunol Immunother* 1977; 3: 69-71.
89. HIRT HM, SCHWENCKE M, BECKER H, KIRCHNER H. Interferon production and lymphocyte stimulation in human leucocyte cultures stimulated by *Corynebacterium parvum*. *Clin Exp Immunol* 1978; 32: 471-474.
90. SYMOENS J, ROSENTHAL M. Levamisole in the modulation of the immune response: the current experimental and clinical state. *J Reticuloendothel Soc* 1977; 21: 175-221.
91. RENOUX G. Immunopharmacologie et pharmacologie du diéthylthiocarbamate (DTC). *J Pharmacol (Paris)* 1982; 13: (Suppl 1) 95-134.
92. RENOUX G. The mode of action of Imuthiol (sodium diethylthiocarbamate). A new role for the brain neocortex and the endocrine liver in the regulation of the T-cell lineage. In: Fenichel

- RL, Chirigos MA, eds. Immune Modulation Agents and their Mechanisms. New York: Marcel Dekker Inc., 1984: 607-624.
93. RENOUX G, RENOUX M. Immunopotential and anabolism induced by sodium diethylthiocarbamate. *J Immunopharmacol* 1979; 1: 247-267.
  94. RENOUX G, RENOUX M. Diethylthiocarbamate (DTC). A biological augmenting agent specific for T cells. In: Fenichel RL, Chirigos MA, eds. Immune Modulation Agents and their Mechanisms. New York: Marcel Dekker Inc., 1984: 7-20.
  95. RENOUX G, RENOUX M. The effects of sodium diethylthiocarbamate, azathioprine, cyclophosphamide, or hydrocortisone acetate administered alone or in association for 4 weeks on the immune responses of BALB/c mice. *Clin Immunol Immunopathol* 1980; 15: 23-32.
  96. NEVEU PJ. The effects of thiol moiety of levamisole on both cellular and humoral immunity during the early response to a hapten-carrier complex. *Clin Exp Immunol* 1978; 32: 419-422.
  97. NEVEU PJ, VINCEDEAU P. Sodium diethylthiocarbamate and the mononuclear phagocytic system in guinea pigs. *Int Archs Allergy Appl Immun* 1983; 71: 276-278.
  98. NEVEU PJ, PERDOUX D, LAFLEUR L. *In vivo* enhancement of mitogen-induced lymphocyte DNA synthesis by sodium diethylthiocarbamate (DTC). *Int J Immunopharmacol* 1982; 4: 9-13.
  99. CERUTTI I, CHANY C. Coordinated therapeutic effects of immune modulators and interferon. *Infect Immun* 1983; 42: 728-732.
  100. LUZY T, CREACH O, FONTANGES R. Efficacité de la vaccination par voie buccale contre *Salmonella typhimurium* chez la souris préalablement soumise à un traitement immunostimulant. *CR Soc Biol* 1983; 177: 616-625.
  101. POMPIDOU A, DUCHET N, COOPER MD, MACE B, TELVI L, COUTANCE F, HADDEN JW, RENOUX G. The generation and regulation of human T lymphocytes by Imuthiol. Evidence from an *in vitro* differentiation induction system. *Int J Immunopharmacol* 1985; 7: 561-566.
  102. RENOUX G, RENOUX M. Administration of DTC gives evidence of a role of the thymus in the control and regulation of factors inducing thymocyte differentiation in the mouse. *Thymus* 1980; 2: 139-146.
  103. RENOUX G, RENOUX M, GUILLAUMAIN JM, GOUZIE C. Differentiation and regulation of lymphocyte populations: evidence for immunopotentiator-induced T cell recruitment. *J Immunopharmacol* 1979; 1: 415-422.
  104. RENOUX G, TOURAINE JL, RENOUX M. Induction of different action of human null cells into T lymphocytes under the influence of serum of mice treated with sodium diethylthiocarbamate. *J Immunopharmacol* 1980; 2: 49-59.
  105. RENOUX G, BIZIÈRE K, RENOUX M, GUILLAUMAIN JM. Le cortex cérébral règle les réponses immunes des souris. *CR Acad Sci (Paris)* 1980; 290D: 719-722.
  106. RENOUX G, BIZIÈRE K, RENOUX M, GUILLAUMAIN JM. The production of T-cell inducing factors in mice is controlled by the brain neocortex. *Scand J Immunol* 1983; 17: 45-50.
  107. ABO-SHEHADA MN, HERBERT IV. Investigations of effects of some immunoadjuvants and routes of antigen administration in raising antibodies in rabbits against metacystode cyst antigens of *Taenia multiceps*. *J Immunol Methods* 1983; 61: 345-350.
  108. BOMFORD R. The comparative selectivity of adjuvants for humoral and cell-mediated immunity. I. Effect on the antibody response to bovine serum albumin and sheep red blood cells of Freund's incomplete and complete adjuvants, alhydrogel, *Corynebacterium parvum*, *Bordetella pertussis*, muramyl dipeptide and saponin. *Clin Exp Immunol* 1980; 39: 426-434.
  109. ARCHAMBAULT D. Immunité chez les bovins en relation avec les rotavirus et les immunoadjuvants. Thèse de Ph.D., Université de Montréal, 1986.
  110. BRULEY-ROSSET M, VERGNON I, RENOUX G. Influences of sodium diethylthiocarbamate, DTC (Imuthiol<sup>®</sup>) on T cell defective responses of aged BALB/c mice. *Int J Immunopharmacol* 1986; 8: 287-297.
  111. RENOUX G, GUILLAUMAIN JM, RENOUX M. Favorable influences of imuthiol on mouse reproduction and immune system of offspring. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1985; 8: 101-106.
  112. CARELLI C, RALAMBORANTO L, AUDIBERT F, GAILLARD J, BRIQUELET N, DRAY F, FAFEUR V, HAOUR F, CHEDID L. Immunological castration by a totally synthetic vaccine: modification of biological properties of LH-RH after conjugation to adjuvant-active muramyl peptide. *Int J Immunopharmacol* 1985; 7: 215-224.



**TO MEET ITS NUTRITIONAL STANDARDS  
COMME SATISFAISANT À SES NORMES NUTRITIVES**

**Third party quality assurance**

**It makes recommending pet foods an easier task.**

The Canadian Veterinary Medical Association  
Pet Food Certification Program

For more information on the CVMA Pet Food Certification Program contact the CVMA office at:  
339 Booth Street, Ottawa, Ont. K1R 7K1 — (613) 236-1162

